МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32380— 2020

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Испытания по оценке токсического воздействия на пренатальное развитие

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным унитарным предприятием «Российский научно-технический центр информации по стандартизации, метрологии и оценке соответствия» (ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 июня 2020 г. № 131-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 21 октября 2020 г. № 887-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32380—2020 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2021 г.

5 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному документу OECD Test № 414:2018 «Руководство по испытанию химических веществ. Исследования токсичности для пренатального развития» («OECD Guideline for testing of chemicals. Prenatal developmental toxicity study», MOD) путем:

- включения дополнительного раздела 1, который выделен в тексте курсивом;
- изменения его структуры для приведения в соответствие с правилами, установленными в ГОСТ 1.5 (подразделы 4.2 и 4.3).

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой указанного международного документа приведено в дополнительном приложении ДА.

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6)

6 ВЗАМЕН ГОСТ 32380—2013

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2020

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Термины и определения 1
3 Основные положения 2
4 Принцип проведения испытаний 2
5 Подготовка к испытанию 3
6 Проведение испытаний 3
7 Данные и отчет 6
Приложение ДА (справочное) Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа 9
Библиография 11

Введение

Руководства Организации экономического сотрудничества и развития (OECD) по испытаниям химических веществ периодически пересматривают с учетом научного прогресса. Первоначальная версия данного руководства (TG 414) была опубликована в 1981 г. и пересмотрена в 2001 г. на основе результатов работы экспертной группы ОЭСР по исследованию репродуктивной и эмбриональной токсичности [1]. Руководство TG 414 было пересмотрено в 2018 г. с целью включения дополнительных конечных точек для расширения возможности обнаружения химических веществ, разрушающих эндокринную систему.

Выбранные дополнительные конечные точки, определяющие эндокринного разрушителя [аногенитальное расстояние (AGD) у плода и тиреоидные гормоны у самок], были включены в настоящее руководство после оценки целесообразности и технико-экономического обоснования проблем, касающихся включения дополнительных конечных точек в метод испытания по [2]. Обновленная редакция предусматривает включение требований, специфичных для крыс.

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Испытания по оценке токсического воздействия на пренатальное развитие

Methods of testing the impact of chemical products on the human body.
Tests on the assessment of toxic effects on prenatal development

Дата введения — 2021—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод проведения испытаний по оценке токсического воздействия химических веществ на пренатальное развитие и на беременных животных.

Настоящий стандарт не распространяется на функциональные дефекты. Такие отклонения могут быть исследованы при проведении отдельного испытания или в качестве дополнения к настоящему испытанию с использованием метода исследования на нейротоксичность развивающегося организма. Для получения информации об исследовании функциональных и послеродовых эффектов следует использовать стандарт по испытаниям на репродуктивную токсичность и токсичность на примере развития двух поколений, а также нейротоксичность развивающегося организма.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **токсикология развития** (developmental toxicology): Изучение негативных последствий для развивающегося организма, возникающих в результате воздействия до зачатия, во время внутриутробного развития или постнатального периода к моменту полового созревания.

Примечание — Основные проявления токсичности для развивающегося организма включают: 1) гибель организма, 2) структурные аномалии, 3) изменение роста, 4) функциональные дефекты. Токсикологию развития ранее часто называли тератологией.

2.2 **негативный эффект** (adverse effect): Изменение исходного состояния, связанное с токсическим воздействием химического вещества, приводящее к снижению способности организма к выживанию, воспроизводству или адаптации в окружающей среде.

Примечание — В терминах токсикологии развития в широком значении данное понятие включает в себя любые эффекты, препятствующие нормальному развитию концептуса как до, так и после рождения.

2.3 **измененный рост** (altered growth): Изменение массы или размеров органов или тела потомства.

2.4 **изменения (аномалии)** [alterations (anomalies)]: Структурные изменения в развитии, в том числе пороки и отклонения в развитии (см. [38]).

2.5 **пороки/основные аномалии** (malformation/Major Abnormality): Структурные изменения, считающиеся губительными для животных (могут приводить к летальному исходу), и, как правило, редкие.

2.6 **отклонения/малые аномалии** (variation/minor abnormality): Структурные изменения, оказывающие незначительное влияние или практически не оказывающие вредного воздействия на животных, могут быть временными и происходить довольно часто в контрольной совокупности животных исследуемого вида.

Издание официальное

2.7 **концептус** (conceptus): Объединенное наименование производных оплодотворенной яйцеклетки на любой стадии развития от оплодотворения до рождения, в том числе внезародышевые оболочки, а также эмбрион или плод.

2.8 **имплантация** (нидация) [implantation (nidation)]: Прикрепление бластоцисты к эпителиальной оболочке матки, включая проникновение через эпителий матки и встраивание в эндометрий.

2.9 **эмбрион** (embryo): Ранняя или развивающаяся стадия любого организма, в частности, развивающийся продукт оплодотворения яйцеклетки после момента появления длинной оси до формирования всех основных структур.

2.10 **эмбриотоксичность** (embryotoxicity): Губительное влияние на нормальную структуру, развитие, рост и/или жизнеспособность эмбриона.

2.11 **плод** (fetus): Нерожденное потомство в постэмбриональный период.

2.12 **фетотоксичность** (токсичность для плода) (fetotoxicity): Губительное влияние на нормальную структуру, развитие, рост и/или жизнеспособность плода.

2.13 **выкидыш** (abortion): Преждевременное удаление из матки продукта оплодотворения — эмбриона или нежизнеспособного плода.

2.14 **резорбция** (рассасывание, поглощение) (resorption): Поглощение или рассасывание концептуса, который был имплантирован в матку и впоследствии погиб.

2.15 **ранняя резорбция** (early resorption): Признаки имплантации без распознаваемости эмбриона/плода.

2.16 **поздняя резорбция** (late resorption): Мертвый эмбрион или плод с внешними дегенеративными изменениями.

2.17 **NOAEL** (no-observed-adverse-effect level): Максимальный уровень дозы, при котором не наблюдается неблагоприятных эффектов, связанных с воздействием химического вещества.

2.18 **тироидная активность** (thyroid activity): Способность химического вещества препятствовать синтезу, транспорту и метаболизму гормонов щитовидной железы с помощью разных механизмов.

3 Основные положения

3.1 Настоящий стандарт предназначен для исследования токсического воздействия химических веществ на беременных подопытных животных и развивающийся организм для предоставления общей информации об их влиянии на пренатальное развитие. Исследование может включать оценку влияния химических веществ на материнский организм, в том числе на гибель, структурные аномалии и измененный рост плода. Несмотря на то, что функциональные дефекты являются важной частью развития, они не являются предметом настоящего стандарта и могут быть исследованы при проведении отдельного испытания или в качестве дополнения к настоящему стандарту с использованием руководств по отдаленной нейротоксичности. Информация о проведении испытаний функциональных дефектов и других постнатальных эффектов приведена в [3]—[7].

3.2 Настоящий стандарт на основе соответствующих сведений (например, о физико-химических или токсикологических свойствах исследуемого химического вещества) в некоторых случаях может потребовать модификации. Такая адаптация приемлема при наличии обоснованных научных данных, свидетельствующих о том, что она приведет к получению более информативных результатов испытания. В таком случае научное обоснование должно быть тщательно задокументировано в отчете об испытании. При проведении испытаний следует руководствоваться принципами и соображениями о гуманном умерщвлении животных, приведенными в [8].

4 Принцип проведения испытаний

Обычно исследуемое химическое вещество вводят беременным животным, начиная с момента имплантации до дня, предшествующего дню запланированного умерщвления животных, который должен быть как можно ближе ко дню нормальных родов без риска потери данных в результате преждевременных родов. Настоящий стандарт предназначен не только для изучения периода органогенеза (от 5 до 15 дней — для грызунов, от 6 до 18 дней — для кроликов), но и эффектов, начиная с момента предимплантации (при необходимости) на протяжении всего периода беременности до проведения кесарева сечения. Незадолго до проведения кесарева сечения самок умерщвляют, изучают содержимое матки и оценивают изменения мягких тканей и скелета плода.

5 Подготовка к испытанию

5.1 Выбор видов животных

Испытания рекомендуется проводить на наиболее подходящих видах животных и использовать лабораторные виды и линии, обычно применяемые при исследованиях токсического воздействия на пренатальное развитие. Предпочтительным видом грызунов является крыса, не грызунов — кролик. Использование других видов животных должно быть обосновано.

5.2 Условия содержания и кормления

5.2.1 Температура в помещении для подопытных животных должна быть (22 ± 3) °С — для грызунов и (18 ± 3) °С — для кроликов. Несмотря на то, что относительная влажность должна быть не менее 30 % и не превышать 70 %, за исключением времени уборки помещения, оптимальное значение составляет от 50 % до 60 %. Освещение должно быть искусственным, с чередованием периодов света (12 ч) и темноты (12 ч). Для кормления можно использовать обычные лабораторные рационы с неограниченной подачей питьевой воды.

5.2.2 Следует избегать использования пищи и подстилочного материала, которые могут содержать недопустимо высокие уровни гормонально активных веществ, склонных или способных помешать интерпретации результатов испытания (например, фитоэстрогенов). Известно, что высокий уровень фитоэстрогенов в лабораторной пище увеличивает массу матки у грызунов. Рекомендуемые уровни фитоэстрогенов в пище не должны превышать 350 мкг эквивалентов генистеина/г лабораторной пищи для грызунов.

5.2.3 Спаривание проводят в клетках, подходящих для этой цели. Несмотря на то, что предпочтительным является индивидуальное размещение оплодотворенных грызунов, также приемлемо размещение небольшими группами. Оплодотворенные самки в конце беременности должны быть обеспечены подстилочным материалом для гнезда. Кролики должны быть размещены индивидуально.

5.3 Подготовка животных

Используют здоровых животных, прошедших акклиматизацию в лабораторных условиях не менее 5 дней и не подвергавшихся ранее экспериментальным процедурам. Подопытные животные должны быть охарактеризованы по виду, линии, источнику, полу, массе и/или возрасту. Животные всех подопытных групп должны, по возможности, иметь одинаковую массу тела и возраст. Для каждого уровня дозы используют молодых, взрослых, нерожавших самок. Самок спаривают с самцами того же вида и линии, следует избегать спаривания животных из одного помета. Для грызунов за день «0» беременности принимают день, когда у самок обнаруживают вагинальную пробку и/или сперму; для кроликов за день «0», как правило, принимают день полового акта или искусственного оплодотворения (при использовании данного метода). Клетки должны быть размещены таким образом, чтобы свести к минимуму возможные последствия, связанные с ее размещением. Каждому животному должен быть присвоен уникальный идентификационный номер. Оплодотворенных самок произвольным образом распределяют на подопытные и контрольные группы, и, если самок оплодотворяют по партиям, животные каждой партии должны быть произвольным образом распределены по группам. Аналогичным образом самок, оплодотворенных одним самцом, равномерно распределяют по группам.

6 Проведение испытаний

6.1 Число и пол животных

Каждая подопытная и каждая контрольная группы должны содержать число самок, достаточное для получения приблизительно 20 самок с имплантацией для аутопсии. Группы с числом животных с имплантацией менее 16 могут быть неприемлемыми. Материнская смертность, не превышающая 10 %, не влияет на результаты испытания.

6.2 Подготовка доз

При использовании растворителя (или других добавок) для облегчения дозирования необходимо уделять внимание следующим его характеристикам: влияние на абсорбцию, распределение, метаболизм и удерживание или выведение исследуемого вещества; влияние на химические свойства иссле-

дуемого вещества, которое может изменить его токсические характеристики; влияние на потребление воды и пищи или режим питания животных. Растворитель не должен быть токсичным для развития и не оказывать влияние на размножение (воспроизводство).

6.3 Дозирование

6.3.1 Обычно исследуемое химическое вещество вводят ежедневно с момента имплантации (например, на 5-й день после спаривания) до дня, предшествующего запланированному кесареву сечению. Если предварительные исследования (при наличии) не указывают на высокий потенциал предимплантационной гибели, введение вещества может быть продлено на весь период беременности от спаривания до дня, предшествующего запланированному гуманному умерщвлению. Известно, что несоответствующее обращение или стресс во время беременности могут привести к пренатальной потере (выкидышу). Для предотвращения потерь плода от факторов, не связанных с воздействием вещества, следует избегать нежелательного обращения с беременными животными, а также стресса от внешних факторов, например шума.

6.3.2 Обычно используют не менее трех уровней дозы и параллельный контроль. Здоровых животных случайным образом распределяют между контрольной и подопытной группами. Интервалы между уровнями доз выбирают с учетом возможности дальнейшей градации токсических эффектов. За исключением случаев ограничения, вызванных физической/химической природой или биологическими свойствами исследуемого химического вещества, максимальную дозу выбирают с целью вызвать некоторую эмбриональную или материнскую токсичность (клинические признаки или снижение массы тела), но не смерть или тяжелые страдания. Минимум один промежуточный уровень дозы должен вызывать минимальные наблюдаемые токсические эффекты. Самый низкий уровень дозы не должен вызывать материнскую или эмбриональную токсичность. Убывающую последовательность уровней доз выбирают для демонстрации любого ответа, связанного с воздействием вещества и уровня, при котором не наблюдается неблагоприятных эффектов (NOAEL), или доз, близких к пределу обнаружения, которые позволили бы определить контрольную (бенчмарк) дозу. Для установления уровней убывающей дозы оптимальны двух-, четырехкратные интервалы, и часто предпочтительнее добавить четвертую подопытную группу, чем использовать очень большие интервалы (например, более чем в 10 раз) между дозами. Несмотря на то, что целью проведения испытаний является установление NOAEL для материнской особи, испытания, в которых не определяется такой уровень, также могут быть приемлемыми (см. [9]).

6.3.3 Уровни дозы следует выбирать с учетом любых имеющихся токсикологических данных, а также дополнительной информации о метаболизме и токсикокинетических характеристиках исследуемого химического вещества или родственных веществ. Эта информация также будет способствовать подтверждению адекватности режима дозирования.

6.3.4 Следует использовать параллельную контрольную группу, которой обеспечивают тот же режим, что и подопытным группам. Эта группа должна быть ложной (плацебо) контрольной группой или контрольной группой растворителя, если для введения исследуемого химического вещества используют растворитель (носитель). Животным всех групп вводят одинаковый объем исследуемого химического вещества или растворителя (носителя). С животными подопытных и контрольной групп обращаются идентичным образом. Животные контрольной группы растворителя (носителя) должны получать его в максимально используемом количестве (как и животные группы с самым низким уровнем дозы).

6.4 Испытание предельной дозы

Если испытание одного уровня дозы не менее 1000 мг/кг массы тела в сутки при пероральном введении с использованием процедур, предусмотренных для этого испытания, не приводит к наблюдаемой токсичности и если эффект не предполагается на основании имеющихся данных (например, для структурно и/или метаболически родственных соединений), тогда проведение полного испытания с использованием трех уровней дозы не считают необходимым. Ожидаемое воздействие на человека может указывать на необходимость перорального введения более высокого уровня дозы и проведения испытания с предельной дозой. При других способах воздействия, таких как ингаляционное или нанесение на кожу, физико-химические свойства исследуемого химического вещества часто могут достигать максимального уровня воздействия (например, нанесение на кожу не должно вызывать серьезную локальную токсичность).

6.5 Введение доз

6.5.1 Исследуемое вещество или растворитель обычно вводят перорально путем интубации. При использовании другого пути введения лицо, проводящее испытание (руководитель исследования), должно представить обоснование и аргументировать выбор, в данном случае может быть необходима соответствующая модификация (см. [10]—[12]). Исследуемое химическое вещество вводят каждый день приблизительно в одно и то же время.

6.5.2 Дозу для каждого животного обычно выбирают на основании последнего определения индивидуальной массы тела. Следует соблюдать осторожность при корректировке дозы в течение последнего триместра беременности. Для предотвращения избыточной токсичности для материнской особи при выборе дозы следует использовать имеющиеся данные. Однако если проявляется избыточная токсичность у самок, подвергнутых воздействию вещества, этих животных следует умертвить гуманным способом. Если у нескольких беременных животных проявляются признаки избыточной токсичности, следует рассмотреть возможность прекращения применения этой дозы. При принудительном введении исследуемого химического вещества предпочтительнее вводить его животным в виде однократной дозы, с использованием желудочного зонда или подходящей интубационной канюли. Максимальный объем жидкости, который может быть введен за один раз, зависит от размера подопытного животного. Объем не должен превышать 1 $см^3$ на 100 г массы тела, за исключением водных растворов, когда можно использовать 2 $см^3$ на 100 г массы тела. Если в качестве носителя (растворителя) используют кукурузное масло, то объем не должен превышать 0,4 $см^3$ на 100 г массы тела. Изменение вводимого объема должно быть сведено к минимуму путем регулирования концентрации для обеспечения постоянного объема для доз всех уровней.

6.6 Наблюдения за самками

Клинические наблюдения проводят и регистрируют не менее одного раза в день, предпочтительно в одно и то же время, с учетом пикового периода ожидаемых эффектов после введения дозы. Должно быть зарегистрировано состояние животных, включая случаи смерти, состояние агонии, соответствующие изменения в поведении и любые признаки очевидной токсичности.

6.7 Масса тела и потребление пищи

6.7.1 Животных взвешивают в день «0» или не позже третьего дня, если животные поставляются оплодотворенными от стороннего производителя, в первый день дозирования, а затем каждые три дня в течение испытания и в день запланированного умерщвления. Результаты измерения масс тел беременных и небеременных самок не следует смешивать.

6.7.2 Потребление пищи следует регистрировать с трехдневным интервалом и оно должно совпадать с днями определения массы тела.

6.8 Патологоанатомическое исследование

6.8.1 Самки должны быть умерщвлены за один день до предполагаемых родов. Самок с признаками выкидыша или преждевременных родов умерщвляют гуманным способом до запланированного времени умерщвления и подвергают тщательному макроскопическому обследованию.

6.8.2 При завершении испытания или смерти во время исследования самок обследуют макроскопически на наличие любых структурных отклонений. Определяют массу щитовидной железы и проводят гистопатологическую оценку щитовидной железы каждой самки для обнаружения патологических изменений. Для сведения к минимуму влияния субъективных факторов оценку самок во время кесарева сечения и последующие анализы плода предпочтительно проводить без информации о принадлежности к подопытной группе. Отбор образцов по подопытным группам необходимо проводить методом случайной выборки для предотвращения непрезентативного отбора (т. е. во избежание сбора всех образцов одной дозовой группы, затем следующей дозовой группы и т. д.).

6.9 Исследование содержимого матки

6.9.1 Сразу после завершения исследования максимально быстро после смерти удаляют матку и устанавливают статус беременности. Матки, которые выглядят неоплодотворенными, должны быть дополнительно исследованы (например, окрашиванием сульфидом аммония — для грызунов и окрашиванием Salewski или альтернативным методом — для кроликов) для подтверждения отсутствия беременности (см. [13]).

6.9.2 Матки беременных животных, включая шейку матки, должны быть взвешены. Массу маток не определяют для животных, обнаруженных мертвыми в ходе исследования.

6.9.3 Для беременных животных определяют число желтых тел.

6.9.4 Содержимое матки исследуют на наличие эмбриональной смертности, на число внутриутробных смертей и жизнеспособных плодов. Должна быть описана степень резорбции (ранняя, поздняя) для оценки времени смерти концептуса.

6.10 Осмотр плодов

6.10.1 Определяют пол и массу каждого плода. У всех доживших плодов грызунов измеряют аногенитальное расстояние (AGD).

6.10.2 Каждый плод осматривают на наличие внешних изменений (см. [14]).

6.10.3 Плоды должны быть осмотрены на наличие изменений мягких тканей и скелета (отклонения, пороки развития или аномалии) (см. [15]—[32]). Классификация изменений плода желательна, но не обязательна. Если проводят классификацию, то должны быть четко установлены критерии для определения каждой категории. Особое внимание следует обратить на изменения половых путей, которые необходимо осмотреть на наличие признаков нарушений развития. Пол плода, определенный по внешнему виду (по данным макроскопического обследования), следует сравнивать с внутренним (гонадным) полом у всех плодов (при этом проверяют наличие пороков развития как скелета, так и мягких тканей). У плодов мужского пола следует отмечать неполное опущение/крипторхизм яичка.

6.10.4 Приблизительно половина каждого помета грызунов должна быть препарирована и осмотрена на наличие аномалий развития скелета. Остальные грызуны должны быть препарированы и исследованы на наличие изменений мягких тканей с использованием принятых или соответствующих методов последовательного сечения или методов аккуратного общего вскрытия.

6.10.5 Для не грызунов, например кроликов, каждый плод необходимо осматривать на наличие изменений мягких тканей и скелета. Тела каждого плода после вскрытия осматривают на наличие изменений мягких тканей, при вскрытии допускается использовать процедуры для дальнейшего изучения внутренней структуры сердца (см. [33]). Головы половины осматриваемых плодов удаляют и препарируют для оценки изменений мягких тканей (глаза, головной мозг, носовые ходы и язык) с использованием стандартного метода последовательных сечений (см. [34]) или метода с равной чувствительностью. Тела поврежденных и неповрежденных плодов должны быть препарированы и осмотрены на наличие изменений скелета, используя методы, приведенные для грызунов.

6.11 Сбор образцов крови (для крыс)

Все образцы крови должны храниться в соответствующих условиях. Образцы крови должны быть собраны следующим образом:

- от всех самок при прекращении исследования для обязательной оценки гормонов щитовидной железы Т4, Т3 и тиреотропного гормона (TSH) в течение короткого срока (например, два часа) утром в день вскрытия. Следует приложить усилия для предотвращения пристрастного отбора путем рандомизации отбора крови в подопытных группах. Не следует объединять образцы крови беременных и небеременных самок;
- при необходимости могут быть определены другие гормоны;
- для контроля качества рекомендуется собирать исторические контрольные данные и вычислять коэффициенты вариации (погрешность метода) для исследуемых веществ, особенно для параметров, связанных с функцией эндокринной системы. Эти данные могут быть использованы для сравнения при оценке результатов последующих исследований.

7 Данные и отчет

7.1 Данные

7.1.1 Должны быть предоставлены индивидуальные данные о животных. Кроме того, все данные должны быть сведены в табличную форму, показывающую для каждой подопытной группы число животных в начале испытания, число животных, обнаруженных мертвыми или умерщвленных по соображениям гуманности во время испытания, время смерти или гуманного умерщвления, число беременных самок, число животных с признаками токсичности, описание наблюдаемых признаков токсичности (включая время начала, продолжительность и тяжесть любых токсических эффектов), типы гистопато-

логических изменений (щитовидная железа), виды наблюдений плода и все соответствующие данные о помете.

7.1.2 Количественные результаты должны быть оценены соответствующим статистическим методом с использованием помета в качестве единицы для анализа данных. Следует использовать общепринятый статистический метод или новый усовершенствованный статистический метод; статистические методы выбирают как часть плана исследования. Также приводят данные о животных, которые не дожили до запланированного гуманного умерщвления. Эти данные, при необходимости, могут быть включены в среднее групповое значение. Целесообразность использования данных от такого животного и, следовательно, включение или исключение из среднего группового значения оценивают индивидуально.

7.2 Оценка результатов

7.2.1 Результаты испытания токсичности для пренатального развития следует оценивать с учетом наблюдаемых эффектов. Оценка включает следующую информацию:

- результаты испытаний для материнской особи и плода, включая оценку зависимости или ее отсутствия между воздействием на животных исследуемого химического вещества и частотой и серьезностью всех полученных результатов;
- критерии, используемые для классификации внешних изменений, изменений мягких тканей и скелета плода, если классификация была сделана;
- исторические контрольные данные для улучшения интерпретации результатов испытания, при наличии;
- исходные данные, используемые при расчете всех процентных значений или показателей;
- соответствующий статистический анализ результатов испытаний, включая необходимую информацию о методе анализа, что позволит независимому эксперту/статистику повторно проанализировать и реконструировать анализ.

7.2.2 В любом исследовании, которое демонстрирует отсутствие токсических эффектов, следует рассмотреть вопрос о дополнительном исследовании для определения абсорбции и биодоступности исследуемого химического вещества.

7.3 Отчет об испытании

Отчет об испытании должен содержать следующую информацию:

7.3.1 Исследуемое химическое вещество:

- химическую идентификацию, например наименование по IUPAC, регистрационный номер CAS, формулу SMILES или код InChI, структурную формулу, чистоту, химическую идентификацию примесей в зависимости от ситуации, практической целесообразности и т. д.;
- источник, номер партии, срок хранения (при наличии);
- стабильность исследуемого химического вещества, если известно;
- однородность исследуемого химического вещества, если известно.

7.3.1.1 Однокомпонентное вещество:

- физическое состояние, растворимость в воде и дополнительные соответствующие физико-химические свойства.

7.3.1.2 Многокомпонентное вещество, вещества с неопределенным и переменным составом (UVCB) и смеси:

- характеризуют (насколько это возможно) химическим наименованием (см. выше), количественным присутствием и соответствующими физико-химическими свойствами компонентов.

7.3.2 Растворитель (при использовании):

Обоснование выбора растворителя (носителя), за исключением воды.

7.3.3 Подопытные животные:

- используемый вид и линия;
- число и возраст животных;
- источник, условия содержания и кормления и пр.;
- индивидуальная масса животных в начале испытания.

7.3.4 Условия проведения испытаний:

- обоснование выбора уровня доз;

- подробная информация об исследуемом химическом составе/подготовке пищи, достигаемые концентрации, стабильность и однородность вводимого препарата;
- подробности введения исследуемого химического вещества;
- преобразование содержания исследуемого вещества в пище/питьевой воде (ppm) в фактическую дозу (мг/кг массы тела в день), при необходимости.

7.4 Результаты

7.4.1 Реакция материнской особи на вводимые дозы включает (но не ограничивается):
- число животных в начале испытания, число выживших животных, число беременных животных, число выкидышей и преждевременных родов;
- день гибели во время испытаний или число животных, доживших до завершения испытания;
- регистрацию данных о животных, не доживших до запланированного умерщвления. Эти данные не используют для статистических сравнений между группами;
- день наблюдения любого аномального клинического признака и его последующее развитие;
- массу тела, изменение массы тела и массы матки беременного животного, в том числе факультативно изменение массы тела с поправкой на массу матки беременного животного;
- потребление пищи, если измеряли, и потребление воды;
- для самок крыс — содержание тиреоидных гормонов Т4, Т3 и тиреотропного гормона (TSH) и уровни других гормонов (если определяли), дополнительную информацию о пределах обнаружения гормонов, указанную в наборе реагентов, используемых для измерения уровня гормонов, исторические контрольные данные для лаборатории (средние значения и стандартные отклонения) о пределе обнаружения/пределе количественного определения;
- результаты аутопсии, включая массу матки;
- значения NOAEL при воздействии на материнскую особь и развивающийся организм.

7.4.2 Критерии конечного результата развития для пометов с имплантатами, в том числе:
- число желтых тел;
- число имплантаций, число и процент живых и мертвых плодов и резорбций;
- число и процент потерь до и после имплантации.

7.4.3 Критерии конечного результата развития по дозе для пометов с живыми плодами, в том числе:
- число и процент живого потомства;
- соотношение полов;
- масса тела плода, предпочтительно, с разбивкой по полу;
- аногенитальное расстояние у всех плодов грызунов (статистически оценивают по полу/анатомическому полу и массе);
- пороки внешнего развития, мягких тканей, скелета и другие соответствующие изменения;
- критерии для классификации, при необходимости;
- общее число и процент плодов и пометов с любыми внешними изменениями, изменениями мягких тканей или скелета, а также типы и случаи отдельных аномалий и других соответствующих изменений (в том числе, у плодов-самцов отмечают признаки неполного опущение/крипторхизма яичек).

7.4.4 Обсуждение результатов.

7.4.5 Выводы.

7.5 Интерпретация результатов

Исследование токсического действия на пренатальное развитие позволяет получить информацию о влиянии повторного перорального воздействия вещества во время беременности. Результаты исследования интерпретируют в совокупности с результатами испытаний субхронической и репродуктивной токсичности, токсикокинетических и других исследований. Поскольку особое внимание уделяют конечным точкам как общей токсичности, так и токсичности развития, результаты исследования позволят различить эффекты развития, возникающие при отсутствии общей токсичности и те, которые проявляются только на уровнях, которые также токсичны для беременного животного (см. [35]).

Подробная информация по интерпретации результатов исследований репродуктивной и эмбриональной токсичности приведена в [36]. Информация о подготовке и оценке (эндокринных) органов при гистологической оценке результатов испытаний эндокринной и репродуктивной токсичности на грызунах приведена в [37].

Приложение ДА
(справочное)

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа

Таблица ДА.1

Структура настоящего стандарта	Структура международного документа OECD Test № 414:2018
Введение (1, 2)	Введение 1 2
1 Область применения	
2 Термины и определения (Приложение А)	
3 Основные положения (3,4) 3.1 3.2	Основные положения 3 4
4 Принцип проведения испытаний (5)	Принцип проведения испытаний 5
5 Подготовка к испытанию (6—10) 5.1 Выбор вида животных 5.2 Условия содержания и кормления 5.2.1 5.2.2 5.2.3 5.3 Подготовка животных	Подготовка к испытанию Выбор вида животных 6 Условия содержания и кормления 7 8 9 Подготовка животных 10
6 Проведение испытаний (11—34) 6.1 Число и пол животных 6.2 Подготовка доз 6.3 Дозирование 6.3.1 6.3.2 6.3.3 6.3.4 6.4 Испытание предельной дозы 6.5 Введение доз 6.5.1 6.5.2	Проведение испытаний Число и пол животных 11 Подготовка доз 12 Дозирование 13 14 15 16 Испытание предельной дозы 17 Введение доз 18 19

Окончание таблицы ДА.1

Структура настоящего стандарта	Структура международного документа OECD Test № 414:2018
6.6 Наблюдения за самками	Наблюдения за самками
6.7 Масса тела и потребление пищи	20
6.7.1	Масса тела и потребление пищи
6.7.2	21
6.8 Патологоанатомическое исследование	22
6.8.1	Патологоанатомическое исследование
6.8.2	23
6.9 Исследование содержимого матки	24
6.9.1	Исследование содержимого матки
6.9.2	25
6.9.3	26
6.9.4	27
6.10 Осмотр плодов	28
6.10.1	Осмотр плодов
6.10.2	29
6.10.3	30
6.10.4	31
6.10.5	32
6.11 Сбор образцов крови (для крыс)	33
	Сбор образцов крови (для крыс)
	34
7 Данные и отчет (35—39)	Данные и отчет
7.1 Данные	Данные
7.1.1	35
7.1.2	36
7.2 Оценка результатов	Оценка результатов
7.2.1	37
7.2.2	38
7.3 Отчет об испытании	Отчет об испытании
7.4 Результаты	39
7.4.1	Результаты
7.4.2	39
7.4.3	Интерпретация результатов
7.4.4	40
7.4.5	
7.5 Интерпретация результатов (40)	
*	Библиография
**	Приложение А Термины и определения
Приложение ДА Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного в нем международного документа	
Библиография	

[*] Библиография размещена в конце настоящего стандарта.

** Приложение А размещено в разделе 2 настоящего стандарта.

Примечание — После заголовков разделов настоящего стандарта приведены в скобках номера аналогичных им параграфов международного документа.

Библиография

[1] Organisation for Economic Co-operation and Development (1995). Report of the OECD Ad Hoc Working Group on Reproduction and Developmental Toxicity. Copenhagen, Denmark (13th—14th June 1995)

[2] OECD (2018). Feasibility Study for Minor Enhancements of TG 414 with ED Relevant Endpoints. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment № 285, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

[3] OECD (2001) Test № 416: Two-Generation Reproduction Toxicity, OECD Publishing, Paris. gost.e-ecolog.ru org/10.1787/9789264070868-en[1)]

[4] OECD (2016) Test № 421: Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264264380-en [2)]

[5] OECD (2016) Test № 422: Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test, OECD Publishing, Paris. gost.e-ecolog.ru [3)]

[6] OECD (2007) Test № 426: Developmental Neurotoxicity Study, OECD Publishing, Paris. gost.e-ecolog.ru org/10.1787/9789264067394-en [4)]

[7] OECD (2012) Test № 443: Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264185371-en

[8] OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluations, Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 19), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

[9] Kavlock R.J. et al. (1996). A Simulation Study of the Influence of Study Design on the Estimation of Benchmark Doses for Developmental Toxicity. Risk Anal. 16, 399—410

[10] Kimmel, C.A. and Francis, E.Z. (1990). Proceedings of the Workshop on the Acceptability and Interpretation of Dermal Developmental Toxicity Studies. Fundam. Appl. Toxicol. 14, 386—398

[11] Wong, B.A., et al. (1997). Developing Specialized Inhalation Exposure Systems to Address Toxicological Problems. CIIT Activities 17, 1—8

[12] US Environmental Protection Agency (1985). Subpart E - Specific Organ/Tissue Toxicity, 40 CFR 798.4350: Inhalation Developmental Toxicity Study.

[13] Salewski, E. (1964). Faerbermethode zum Makroskopischen Nachweis von Implantations Stellen am Uterus der Ratte. Naunyn-Schmeidebergs Arch. Pharmakol. Exp. Pathol. 247, 367

[14] Edwards, J.A. (1968). The External Development of the Rabbit and Rat Embryo. In: Adv. Teratol. D.H.M. Woolam (ed.), Vol. 3. Academic Press, NY

[15] Inouye, M. (1976). Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. Congen. Anom. 16, 171—173

[16] Igarashi, E. et al. (1992). Frequency of Spontaneous Axial Skeletal Variations Detected By the Double Staining Technique for Ossified and Cartilaginous Skeleton in Rat Foetuses. Congen. Anom. 32, 381—391

[17] Kimmel, C.A. et al. (1993). Skeletal Development Following Heat Exposure in the Rat. Teratology 47, 229—242

[1)] Действует ГОСТ 34554—2019 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной токсичности двух поколений».

[2)] Действует ГОСТ 32379—2013 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной/эмбриональной токсичности (скрининговый метод)».

[3)] Действует ГОСТ 34555—2019 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Определение токсичности при повторном/многократном воздействии с одновременным определением оценки репродуктивной/эмбриональной токсичности скрининговым методом».

[4)] Действует ГОСТ 34559—2019 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Исследование нейротоксичности в процессе онтогенеза».

[18] Marr, M.C. et al. (1988). Comparison of Single and Double Staining for Evaluation of Skeletal Development: The Effects of Ethylene Glycol (EG) in CD Rats. Teratology 37, 476

[19] Barrow, M.V. and Taylor, W.J. (1969). A Rapid Method For Detecting Malformations in Rat Foetuses. J. Morphol. 127, 291—306

[20] Fritz, H. (1974). Prenatal Ossification in Rabbits as Indicative of Foetal Maturity. Teratology 11, 313—320

[21] Gibson, J.P. et al. (1966). Use of the Rabbit in Teratogenicity Studies. Toxicol. Appl. Pharmacol. 9, 398—408

[22] Kimmel, C.A. and Wilson, J.G. (1973). Skeletal Deviation in Rats: Malformations or Variations? Teratology 8, 309—316

[23] Marr, M.C. et al. (1992). Developmental Stages of the CD (Sprague-Dawley) Rat Skeleton after Maternal Exposure to Ethylene Glycol. Teratology 46, 169—181

[24] Monie, I.W. et al. (1965). Dissection Procedures for Rat Foetuses Permitting Alizarin Red Staining of Skeleton and Histological Study of Viscera. Supplement to Teratology Workshop Manual, pp. 163—173

[25] Spark, C. and Dawson, A.B. (1928). The Order and Time of Appearance of Centers of Ossification in the Fore and Hind Limbs of the Albino Rat, With Special Reference to the Possible Influence of the Sex Factor. Am. J. Anat. 41, 411—445

[26] Staples, R.E. and Schnell, V.L. (1964). Refinements in Rapid Clearing Technique in the KOH-Alizarin Red S Method for Fetal Bone. Stain Technol. 39, 61—63

[27] Strong, R.M. (1928). The Order, Time and Rate of Ossification of the Albino Rat (Mus norvegicus albinus) Skeleton. Am. J. Anat. 36, 313—355

[28] Stuckhardt, J.L. and Poppe, S.M. (1984). Fresh Visceral Examination of Rat and Rabbit Foetuses Used in Teratogenicity Testing. Teratogen. Carcinogen. Mutagen. 4, 181—188

[29] Walker, D.G. and Wirtschafter, Z.T. (1957). The Genesis of the Rat Skeleton. Thomas, Springfield, IL

[30] Wilson, J.G. (1965) Embryological Considerations in Teratology. In: Teratology: Principles and Techniques, J.G. Wilson and J. Warkany (eds.), University of Chicago, Chicago, IL, pp. 251—277

[31] Wilson, J.G. and Fraser, F.C. (eds.) (1977). Handbook of Teratology. Vol. 4. Plenum, NY

[32] Varnagy, L. (1980). Use of Recent Fetal Bone Staining Techniques in the Evaluation of Pesticide Teratogenicity. Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 28, 233—239

[33] Staples, R.E. (1974). Detection of Visceral Alterations in Mammalian Foetuses. Teratology 9, 37—38

[34] Van Julsingha, E.B. and C.G. Bennett (1977). A Dissecting Procedure For the Detection of Anomalies in the Rabbit Foetal Head. In: Methods in Prenatal Toxicology (eds. D. Neubert, H.J. Merker and T.E. Kwasigroch). University of Chicago, Chicago, IL, pp. 126—144

[35] US Environmental Protection Agency (1991). Guidelines for Developmental Toxicity Risk Assessment. Fed. Register 56, 63798—63826

[36] OECD (2008). Guidance Document on Mammalian Reproductive Toxicity Testing and Assessment. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (№ 43.). Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

[37] OECD. (2009). Guidance Document for Histologic Evaluation of Endocrine and Reproductive Tests in Rodents. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (№ 106) Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

[38] Wise, D.L. et al. (1997). Terminology of Developmental Abnormalities in Common Laboratory Mammals (Version 1). Teratology 55, 249—292

УДК 615.038/615.012/615.014/615.2:006.354 МКС 75.080
11.020
11.120.01 MOD

Ключевые слова: методы испытания, воздействие химической продукции на организм человека, испытания по оценке токсического воздействия на пренатальное развитие

БЗ 11—2020/260

Редактор *В.Н. Шмельков*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 22.10.2020 Подписано в печать 05.11.2020. Формат 60×84¼. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,10.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,

117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru